

THESIS

BONN

1969

SÄULENCHROMATOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNGEN:
ÜBER VERÄNDERUNGEN VON PROTEINEN
DER MENSCHLICHEN BAUCHHAUT
IN ABHÄNGIGKEIT VON ALTER UND GESCHLECHT

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
zu Bonn

vorgelegt von
GISELA WEIGT (geb. Warnke)
└─ aus Kiel

BONN 1969



Digitized by the Internet Archive
in 2026

SÄULENCHROMATOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNGEN
ÜBER VERÄNDERUNGEN VON PROTEINEN
DER MENSCHLICHEN BAUCHHAUT
IN ABHÄNGIGKEIT VON ALTER UND GESCHLECHT

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

zu Bonn

vorgelegt von

GISELA WEIGT (geb. Warnke)

aus Kiel

BONN 1969

Angefertigt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

Referent: Professor Dr. med., Dipl.-Ing. A. Leinbrock

Tag der mündlichen Prüfung: 2. Juli 1969

Aus der Universitätshautklinik Bonn-Venusberg

Direktor: Professor Dr. med., Dipl.-Ing. A. Leinbrock

INHALTS-VERZEICHNIS

I. EINLEITUNG	1
II. ALLGEMEINE BEMERKUNGEN	2
A. Begriffe	2
1. <i>Verständnis der Sache</i>	2
2. <i>Verständlichkeit der Darstellung</i>	3
B. <i>Verständnis der Sache</i>	4
C. <i>Verständlichkeit der Darstellung</i>	5
III. <i>Verständnis der Sache</i>	6
Verständnis I	6
Verständnis II	7
IV. <i>Verständnis der Sache</i>	8
V. <i>Verständnis der Sache</i>	9

Meiner Mutter

Inhaltsverzeichnis

	Seite
EINLEITUNG	6
I. MATERIAL UND METHODE	7
A. Material	7
A ₁ Präparation der Haut	7
A ₂ Fraktionierung der Hauteiweiße	7
B. Säulenchromatographie	10
C. Auswertung	11
II. ERGEBNISSE	13
Fraktion I	15
Fraktion IV	24
III. DISKUSSION	28
IV. LITERATURVERZEICHNIS	33

E I N L E I T U N G

y

Der Begriff der "Biomorphose", der von Max Bürger (7) stammt, und alle keimplasmatisch, chemischen, strukturellen und funktionellen Wandlungen, die der menschliche Organismus im Laufe seines Lebens durchmacht, umfaßt, ist zwar neu, doch beschäftigte man sich schon früher mit dem gleichen Grundproblem. So zeugt R. Rössele (1917) (33) in seiner Monographie, daß die erste Veröffentlichung von Bacon stammt, der seine "Historia vitae et mortis" 1623 publizierte.

Während früher diese Fragen jedoch hauptsächlich von Philosophen behandelt wurden, stehen sie heute im Mittelpunkt wissenschaftlichen Interesses. So ist auch die moderne Dermatologie bemüht, die äußerlich sichtbaren Veränderungen der Haut histologischen und chemischen Kriterien zuzuordnen.

In der hier vorliegenden Arbeit soll säulenchromatographisch untersucht werden, ob sich die Proteine der menschlichen Bauchhaut hinsichtlich Alter und Geschlecht unterscheiden.

I. M A T E R I A L U N D M E T H O D E

A. Material

Aufgearbeitet wurde die Haut von 46 Menschen (Alter: Totgeburt - 84 Jahre), ferner wurden 5 Seren chromatographiert.

A₁-Präparation der Haut

Alle Häute stammen aus der Bauchregion und wurden bei der Sektion als schmale Streifen entlang des üblichen Längsschnittes unterhalb des Bauchnabels gewonnen. *)

Ihre Aufarbeitung erfolgte am Sektionstag. War dies nicht möglich, so wurde die fettfreie Haut in der Tiefkühltruhe verwahrt.

Nach sorgfältiger Entfernung des anhängenden Fettgewebes (scharfe Präparation mit dem Messer und Abtupfen mit Filterpapier) und Entfernung der Haare (Schere) wurden folgende Größen bestimmt: Gesamtdicke der Haut, Gewicht eines Quadratcentimeters, Dicke, Papillenabstand und Konsistenz.

Wasserreiche Gewebe wurden mit Trockeneis eingefroren, in Streifen geschnitten und mit dem Messer zerkleinert, alle anderen Häute mit der Schere bearbeitet. Die Stückchen waren bei beiden Methoden gleich groß.

A₂-Fraktionierung der Hauteiweiße

Die Weiterverarbeitung der Haut erfolgte entsprechend der von Rodermund, Fasold, Turba und Leinbrock (32) entwickelten Methode. Es kam darauf an, alle Arbeitsgänge in einem 24-stündigen Abstand voneinander zu vollziehen. Die Beschreibung erfolgt aus diesem Grunde tageweise. In der Zwischenzeit befanden sich die Lösungen bei 4° C. in der Kühlzelle zur weiteren Extraktion.

*) Herrn Prof. Dr. Herwig Hamperl bin ich zu großem Dank für die freundliche Überlassung der Haut verpflichtet.

1. Tag: Bis zu max. 5 g zerkleinerter Haut wurden in 50 ml Ammoniumacetatpuffer pH 7 mit einem Ultra Turrax-Homogenisator (Typ TP 18/2 - Janke & Kunkel AG) bei 2 000 U/Min. unter ständiger Zugabe von Trockeneis 5 Min. bis zur völligen Zerkleinerung des Gewebes zerkleinert. Hierauf erfolgte eine weitere mechanische Zellaufschließung (ohne chemische und feinstrukturelle Veränderungen zu setzen) in der Vibrogen-Zellmühle (Typ Vi 2, Edmund Bühler, Tübingen), die mit 2/3 Volumen feiner Glasperlen ($D = 0,45 - 0,50$ mm) und 1/3 Vol.Lsg. gefüllt war.
2. Tag: Das Abzentrifugieren der Lösung erfolgte in 100 ml Gefäßen in einer Kühlzentrifuge (MSE Mistral 2L England) 30 Min. bei 3 000 U/Min. Der Überstand wurde filtriert = Fraktion I_1 , der Rückstand erneut in 50 ml Ammoniumacetatpuffer pH 7 gelöst und 5 Min. in der Zellmühle geschüttelt.
3. Tag: Die Abzentrifugierung erfolgte wie am 2. Tag. Der jetzt erhaltene Überstand ergab zusammen mit F I_1 Fraktion I. In einem Metall-Druckfiltrationsgerät wurden die Proteine von F I bei 4 atü Überdruck durch einen Ultrafilter (Sartorius Membranfiltergesellschaft Göttingen, MD 100 - 20, Filter LSG 60) auf 10 % des Ausgangsvolumens eingengt. Der Überstand sah schwach rötlich und trüb aus, das verworfene Filtrat wässrig klar. Der Rückstand wurde mit 400 - 800 ml aqua dest. so lange genutscht, bis die abfließende Flüssigkeit klar wurde, dann in 50 ml 1M Essigsäure gelöst und 5 Min. geschüttelt.
4. Tag: Nach der Zentrifugation - 15 Min. bei 2 000 U/Min. - wurde der Überstand sehr vorsichtig (!) abgegossen und filtriert: F II_1 , der Rückstand wiederum in 50 ml 1 M Essigsäure gelöst und 5 Min. geschüttelt.
5. Tag: Behandlung wie am 4. Tag, es ergab sich F II_2 und somit nach Vereinigung der Teilfraktionen: F II. Der Rückstand wurde wiederum ausgiebigst genutscht, was 2 - 3 Stunden

dauerte, in 50 ml Na-Boratpuffer (+ Urea) gelöst und 5 Min. geschüttelt.

6. Tag: Nach dem Zentrifugieren - 30 Min. bei 3 000 U/Min. - und dem Filtrieren ergab sich F III₁. Der Bodensatz wurde erneut in 50 ml Na-Boratpuffer (+ Urea) gelöst und 5 Min. geschüttelt.
7. Tag: Behandlung wie am 6. Tag, zusammen mit F III₁ ergab sich F III. Zum Rückstand wurden außer 50 ml Na-Boratpuffer (+ Urea) noch 250 mg Na-Borhydrid gegeben und dieser dann 5 Min. geschüttelt.
8. Tag: Zentrifugierung - 30 Min. bei 3 000 U/Min. - , es entstand F IV₁. Der Rückstand wurde wie am 7. Tag behandelt, nur daß jetzt 500 mg Na-Borhydrid zugesetzt wurden.
9. Tag: F IV₂ ergab sich durch Zentrifugieren - 30 Min bei 3 000 U/Min. - . Fraktion IV stellte die letzte Fraktion dar und benötigte zum Filtrieren 2 - 3 Tage, das Filtrat sprudelte. Der noch verbliebene geringe Rest zeigte deutlich, daß der überwiegende Teil des Eiweißes gelöst worden war, bei Häuten von Säuglingen und Kindern z.T. sogar nahezu vollständig.

Alle Fraktionen wurden 5 x 8 Stunden lang erschöpfend dialysiert, F I gegen aqua dest., wobei ein feinflockiger, weißlich-brauner Niederschlag auftrat, F II - F IV gegen 0.001 N Essigsäure, stets bei 4° C. Anschließend erfolgte bei gleicher Temperatur vor dem Ventilator die Einengung der Lösungen auf 1/5 bis 1/10 des Ausgangsvolumens. Beim Dialysieren und Einengen bildete sich bei F IV ein grobflockiger, weißer Niederschlag.

Herstellung der Puffer:

Ammoniumacetatpuffer pH 7

11,2 ml Eisessig und ca. 180 ml aqua dest. mit konz. Ammoniak auf pH 7 einstellen und auf 2 000 ml mit aqua dest. auffüllen.

Na-Boratpuffer (+ Urea)

Lsg. A (0.2 M Na-Borat) und Lsg. B (0.1 n HCl) im Verhältnis von A : B = 550 : 430 zusammengeben und mit Hilfe der Lösungen auf pH 8 einstellen. Zu 1 000 ml Mischung werden 360 g Harnstoff gegeben.

B. Säulenchromatographie

Zur säulenchromatographischen Auftrennung wurde eine Carboxymethyl-Cellulose-Säule (MN-2100 CM, Machery, Nagel & Co, Düren, der Kapazität ca. 0.7 meq/g) von 0.9 x 7 cm benutzt. Diese Auftrennung zählt zur Ionenaustauschersäulenchromatographie und wurde zuerst von McIntire und Schenk (24) angewandt und in ihrer Bedeutung erkannt, während sie ihren heutigen wissenschaftlichen Wert den Arbeiten von Peterson und Sober (30) über die Trennung von Proteinen verdankt.

Die technische Anlage bestand im wesentlichen aus:

- I. Fraktionskollektor (Kombination OB der LKB-Produkte AB, Stockholm), dieser setzt sich in den wichtigsten Teilen zusammen aus:
1 Drehstand, 1 Verteiler, 1 Siphonwippe mit einem Siphon (Volumen 2 ml), 10 Reagenzglasgestellen.
- II. Säule (0.9 cm Ø, mit grober Fritte)
- III. Colora-Ultra-Thermostat Typ NB (Colora Meßtechnik GmbH)
- IV. Varigrad (Fa. Boskamp, Gerätebau KG)
- V. Peristaltische Pumpe (LKB 4912 A, LKB Prod. AB. Stockholm-Bromma).

Die Vorbereitung des Cellulose-Ionenaustauschers geschah folgendermaßen:

- a. Mindestens 3 x aufschwemmen der Cellulose in aqua dest.,
- b. Trocknen mittels Wasserstrahlpumpe und Fritte,
- c. Aufschwemmen mit 0.01 M Acetatpuffer,
- d. 15 Min. entgasen bei $\sim 40^{\circ}$ C.

Die jetzt fertige Cellulose hielt sich in einem verschlossenen Gefäß über längere Zeit und konnte so für mehrere Versuche auf einmal zubereitet werden.

Vor dem vorsichtigen, stets unter gleichen Bedingungen erfolgten Einschwemmen der Cellulosesuspension wurde auf die Fritte der Säule noch zusätzlich 1 cm hoch Glasperlen ($\varnothing = 0.45 - 5.00$ mm) aufgebracht, um einen gleichmäßigen Abfluß zu garantieren und ein Verstopfen zu verhindern. Nach dem Packen der Säule wurde diese mehrmals mit dem Anfangspuffer gewaschen und dann erst das Eiweiß (10 mg) vorsichtig, ohne die Oberfläche zu verletzen, eingefüllt und nach dem Einsickern sofort mit 4 ml Anfangspuffer nachgewaschen.

Die Gradienteneluation erfolgte bei 37° C (der Mantel für den Wasserumlauf der Säule erlaubte eine genaue Einstellung) bei stets gleichbleibendem Druck und stetiger Änderung der Ionenstärke mittels Varigrad, dessen 9 Kammern mit einem Na-Acetatpuffer pH 7 steigender Molarität - 0.01; 0.10; 0.12; 0.14; 0.16; 0.18; 0.20; 0.30; 0.45 - gefüllt waren. Die eingefüllte Flüssigkeitsmenge in den Kammern betrug stets 45 ml. Das Eluat wurde durch einen Volumenmesser - Siphon an der Siphonwippe - auffangen und gesteuert, die Fraktionen dann nach dem Kantwellenmuster auf Reagenzgläser verteilt. Die Eluationsgeschwindigkeit betrug 30 ml/Std., der Wechsel der Fraktionen erfolgte alle 4 Min. Der Gesamtdurchlauf dauerte bei F I 9 Stunden, bei F IV 6 Stunden. Da die Fraktionen II und III nur eine geringe Ausbeute an Eiweiß ergaben, konnten die Untersuchungen nur an F I und F IV vorgenommen werden.

C. Auswertung

Zur Analyse der Fraktionen wurde eine Modifikation der Eolin-Methode benutzt, da es sich lediglich um den Vergleich von Form und Größe äquivalenter Gipfel von Eluatens des gleichen Materials handelte und nicht um vergleichbare Ergebnisse für Moleküle von verschiedener Art und Größe (15). Das Verfahren war im wesentli-

chen von Lowry et al. (18) angegeben worden.

Die stabilen Lösungen A (30 g Na_2CO_3 und 150 ml 1 n NaOH ad 1 000 ml aqua dest.) und B_1 (0.75 % hydriertes CuSO_4) und B_2 (1.5 % hydriertes K-Na-Tartrat) wurden kurz vor Gebrauch zusammengegeben im Verhältnis $A : B_1 : B_2 = 100 : 1 : 1.5$ ml dieser Mixtur wurden jeweils zu den vorher auf 1 ml pipettierten Fraktionen (um etwaige Fehler bei der Volumenmessung des Siphons auszuschließen) mittels einer automatischen Spritze hinzugefügt. Nach 10 Min. bei Raumtemperatur wurde $1/2$ ml des Folinregenzes (Folin-Ciocalteus Phenolregenz - E. Merck AG Darmstadt - und aqua dest. im Verhältnis 4.5 : 5.5) hinzugefügt und geschüttelt, und nach dem Farbumschlag nach 30 Min. bei Raumtemperatur mit einem Spektralphotometer PMQ II der Firma Carl Zeiss die Lichtabsorption bei $750 \text{ m}\mu$ bestimmt. Die Ergebnisse wurden nicht in Konzentrationsangaben aufgezeichnet, da Konzentration und Absorption im linearen Verhältnis zueinander stehen, und es sich um einen Kurvenvergleich bei den Untersuchungen handelte.

Mittels einer Eichkurve, zu deren Herstellung ausgewogenes, lyophilisiertes Hauteiweiß, gelöst in 8 ml 0.5 n Essigsäure und 2 ml 1 n NaOH diente, und der oben angegebenen Auswertung, wurde jeweils die Menge Eiweißlösung bestimmt, die genau 10 mg Eiweiß zur Füllung der Säule enthielt. Es wurde darauf geachtet, daß die Konzentrationen der Lösungen nicht zu stark schwankten, um Fehler auszuschließen.

II. ERGEBNISSE

Bei der Präparation der Haut fielen folgende Dinge auf:

1. Bei jungen Menschen (bis etwa 30 Jahre) ließen sich Fett und Cutis auffallend schwerer trennen als bei alten Menschen.
2. Makroskopisch war mit Ausnahme von Neugeborenenhaut (hinsichtlich des Alters) keine Alters- und Geschlechtszuordnung möglich.
3. Die Schneidbarkeit der Haut hing mehr von der Dicke als vom Alter ab. Vorher eingefrorene Haut ließ sich stets besonders schlecht schneiden.

Die Messung von Dicke und Gewicht (1 cm^2) ließ bei 14 ermittelten Werten keine Zuordnung zu Geschlecht und Alter erkennen, allerdings schien bei beiden zwischen dem 15. bis 30. Lebensjahr ein Maximum zu liegen.

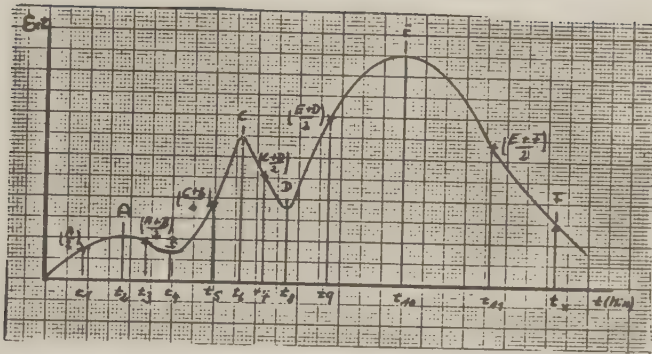
Die mittels Extinktions- bzw. Konzentrationsmessung festgestellte Proteinausbeute der einzelnen Fraktionen schwankte außerordentlich und lag bei 29 Messungen bei Fraktion I zwischen 1.7 und 11.0 %. Eine Abhängigkeit von Alter und Geschlecht war nicht feststellbar.

54 Aufarbeitungen von Hautstücken zwischen 1.8 - 11.0 g ergaben bei Fraktion II 2mal eine Ausbeute von etwas über 10 mg, bei Fraktion III wurde diese Mindestmenge für die Säule einmal erreicht.

Die erhaltenen Kurven wurden nach folgenden Gesichtspunkten eingeteilt:

Gruppe	Alter	Fraktion I		Fraktion IV	
		m	w	m	w
I	Totgeburt - 5 Jahre	3	3	2	4
II	16 - 42 Jahre	5	1	5	1
III	a 50 - 59 Jahre	3	3	3	4
	b 60 - 69 Jahre	10	2	11	2
	c 70 - 79 Jahre	4	2	4	1
	d 80 - 84 Jahre	1	-	1	2

Da sich innerhalb der einzelnen Fraktionen und Gruppen unterschiedliche Zeit- und Extinktionswerte ergaben, wurden Mittelwerts- bzw. Kombinationskurven angefertigt (s. Abbildung). Zuerst wurden die Maxima der Kurven mit den dazugehörigen Zeiten, also : A/t_2 ; C/t_6 ; E/t_{10} festgelegt, dann die Minima : B/t_4 ; D/t_8 und F mit t_x willkürlich bestimmt mit $t_x = 360$ Min. bei Fraktion I und $t_x = 200$ Min. bei Fraktion IV. Um nun einen noch genaueren Kurvenvergleich zu ermöglichen, wurden zusätzlich die Extinktionsmittelwerte mit den entsprechenden Zeiten zwischen Maxima und Minima errechnet. Die hierdurch erhaltenen charakteristischen Kurvenpunkte wurden dann sowohl für die Extinktion als auch für die Zeit gemittelt und als Kombinationskurve dargestellt.

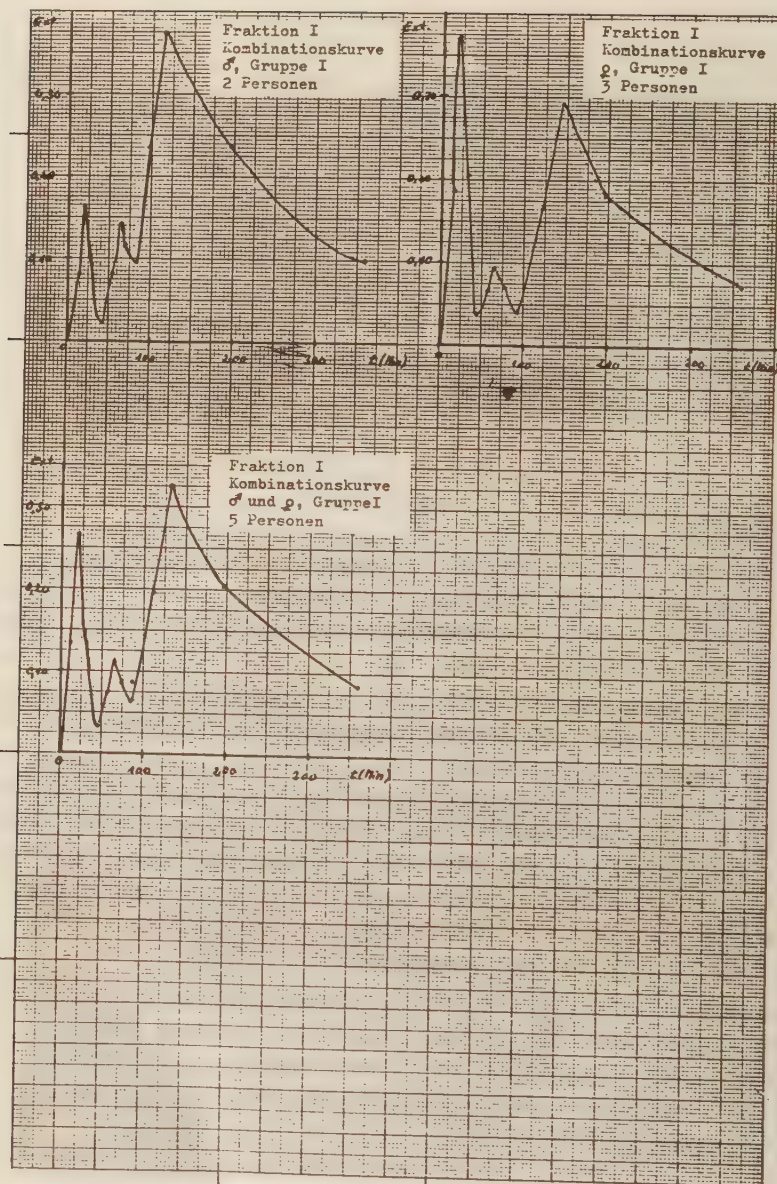


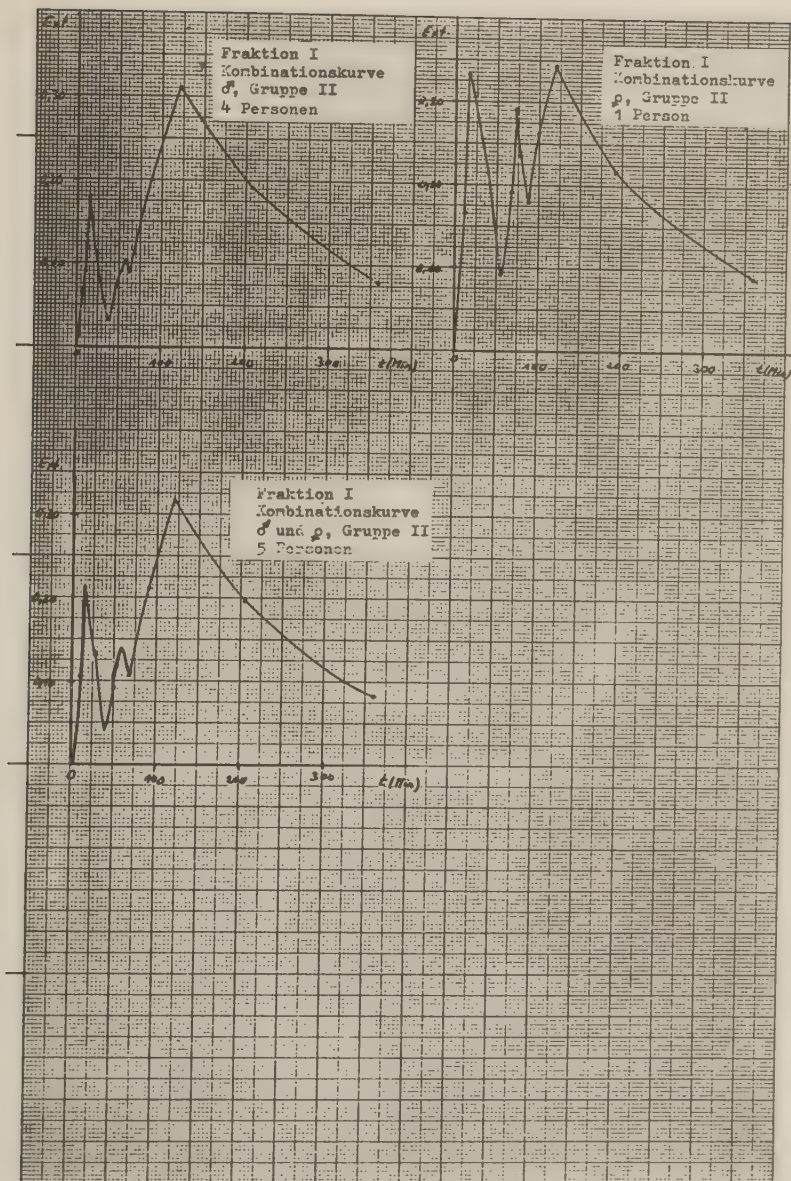
Fraktion I

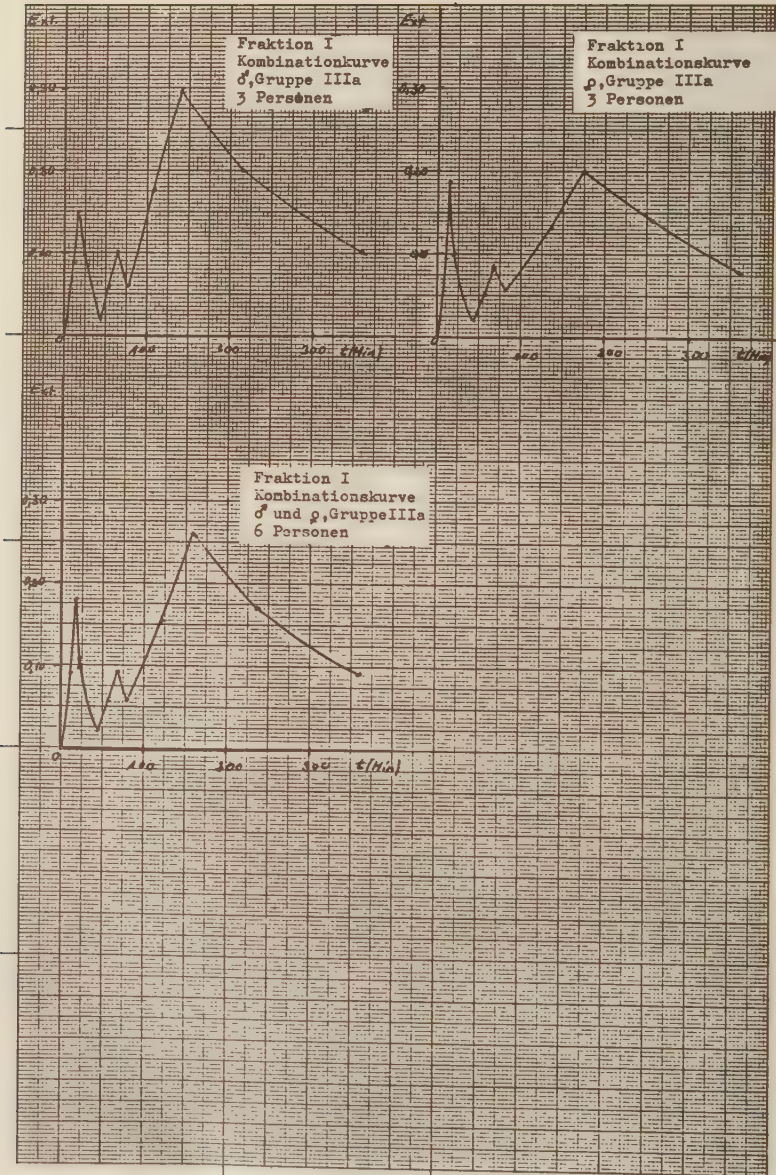
Bei Fraktion I trat zu Beginn ein steil ansteigender hoher 1. Peak nach 10 Min. auf, dem ein 2. niedrigerer nach 60 Min. und ein 3. hoher und sehr breitbasiger, sowie träge abfallender Peak nach etwa 130 Min. folgte.

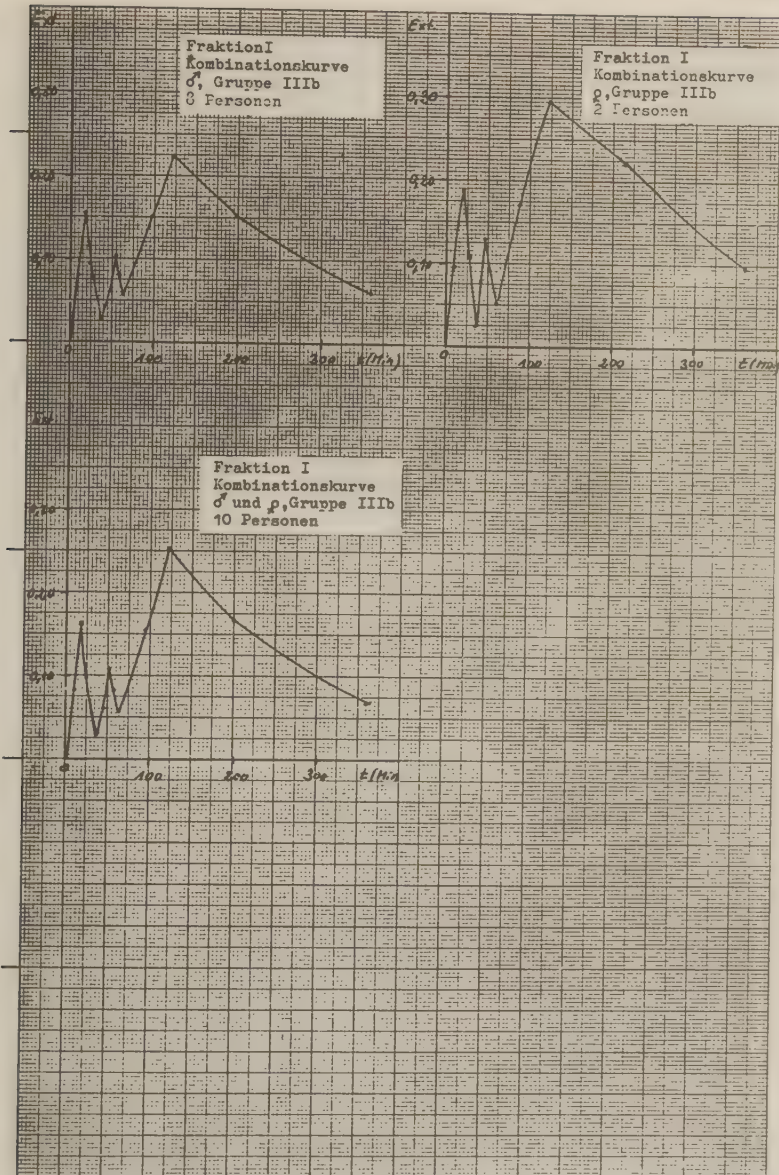
Ein Vergleich der Kombinations- bzw. Mittelwertskurven in bezug auf das Geschlecht ergab bei den Gruppen I, II und III einen bei den Frauen stets höheren 1. Peak mit einer geringen zeitlichen Gesamtverschiebung aller Peaks nach rechts gegenüber den entsprechenden männlichen Kurven. Innerhalb der männlichen Kombinationskurven wurde die Höhe des 3. Peaks von Gruppe I bis Gruppe III c zunehmend kleiner, eine Tendenz, die innerhalb der weiblichen Gruppen nicht feststellbar war (s. Abbildungen der einzelnen Gruppen und der Gesamtfraktion: S.16-23).

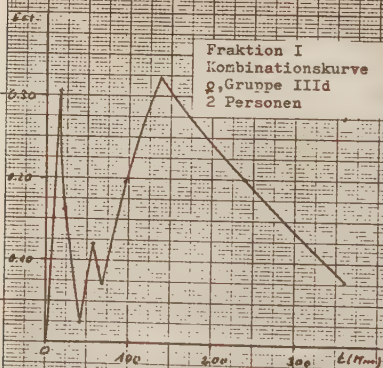
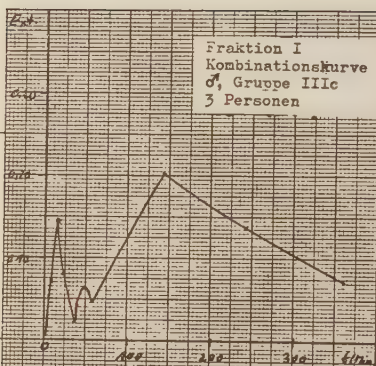
Da innerhalb der Gruppen die Einzelkurven in ihren charakteristischen Punkten zeitlich bis etwa $\pm 25\%$ und in ihrer Extinktion um über $\pm 50\%$ schwankten, war keine eindeutige Aussage innerhalb der Gruppen bzw. der Gesamtfraktion über Geschlechts- und Altersunterschiede möglich.

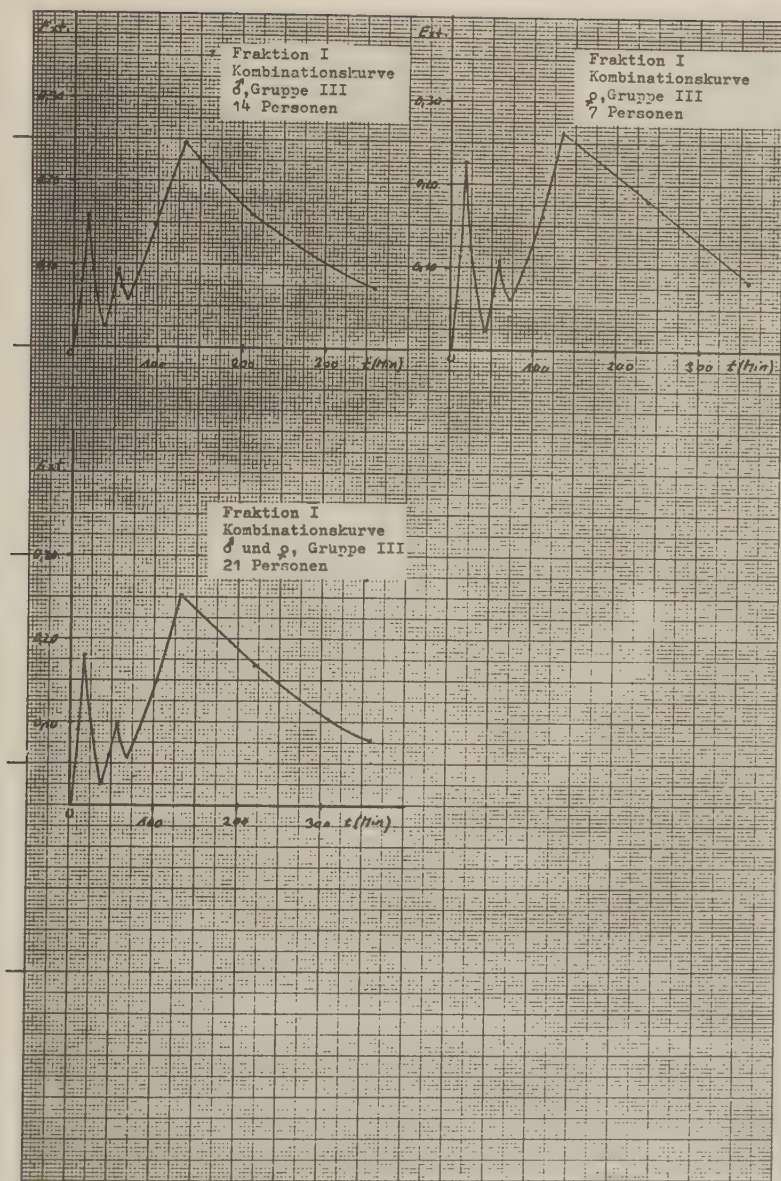


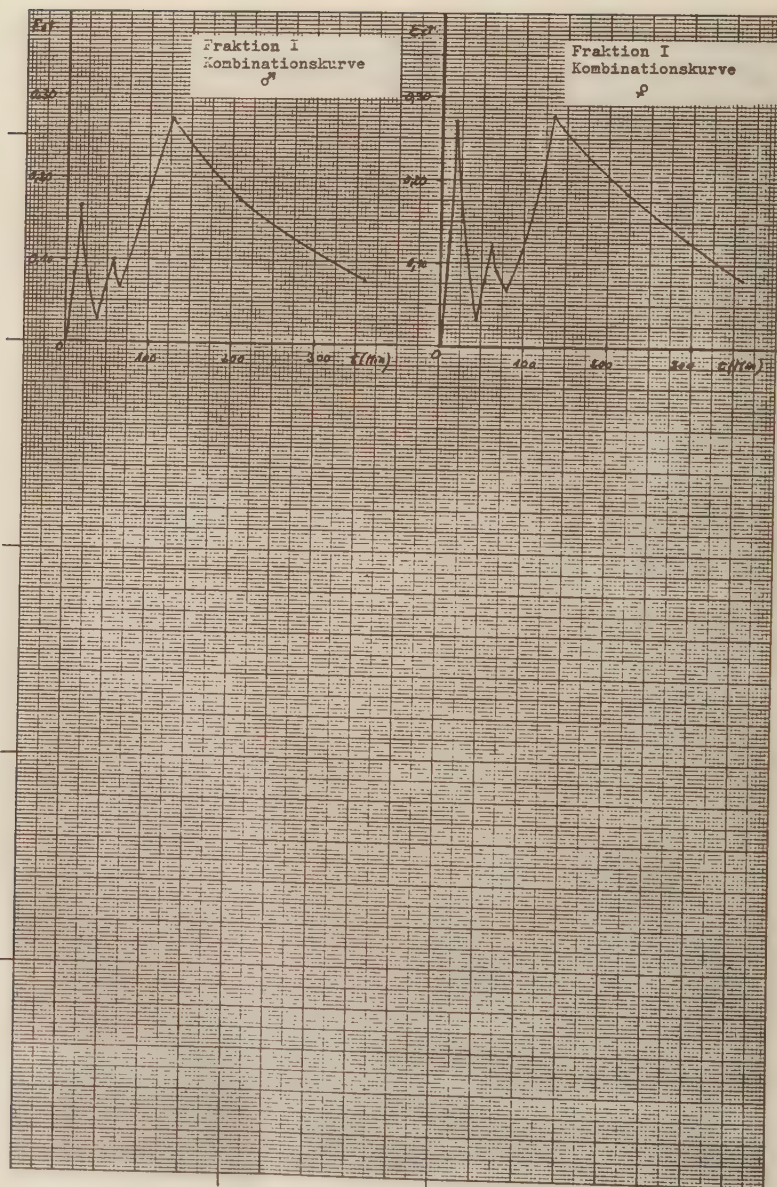


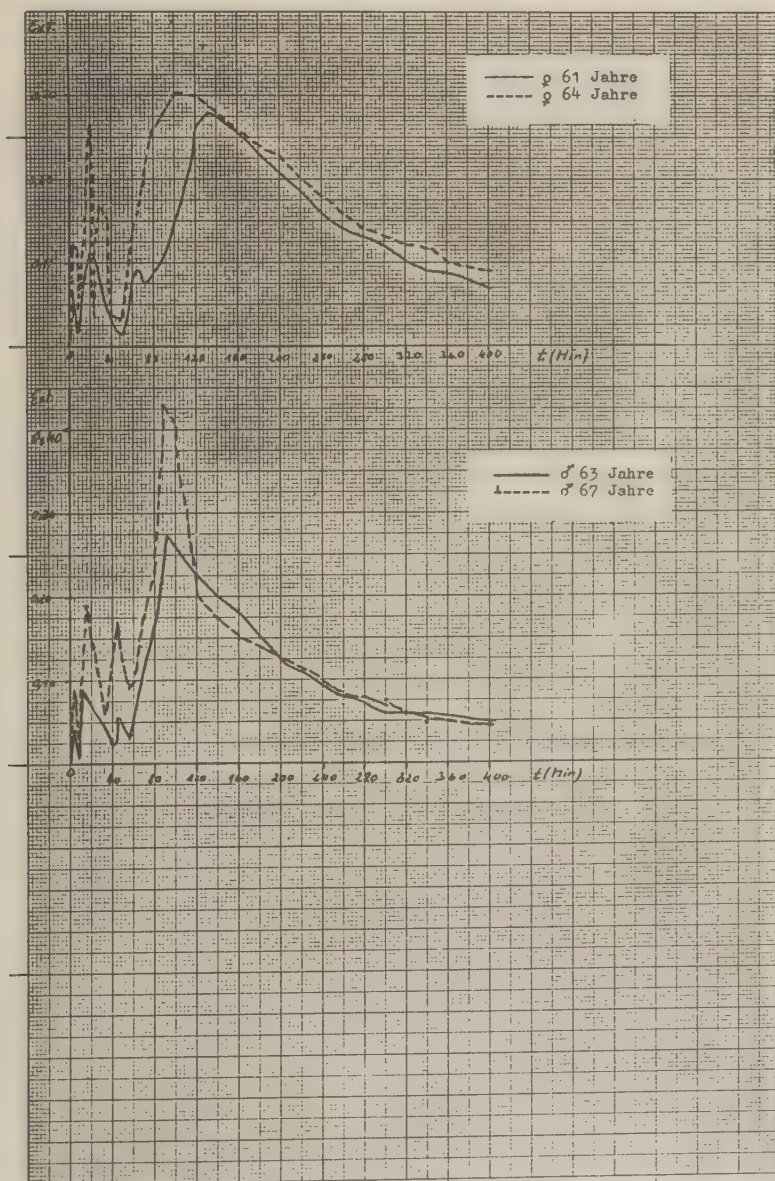












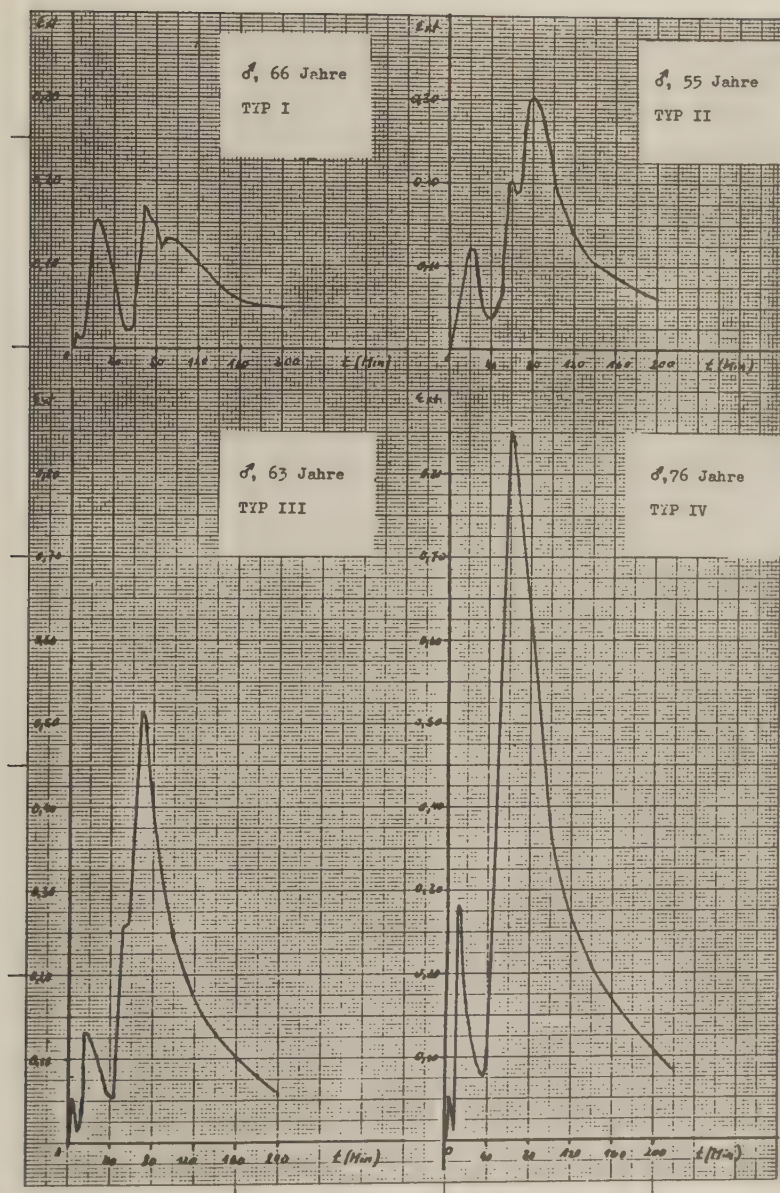
Fraktion IV

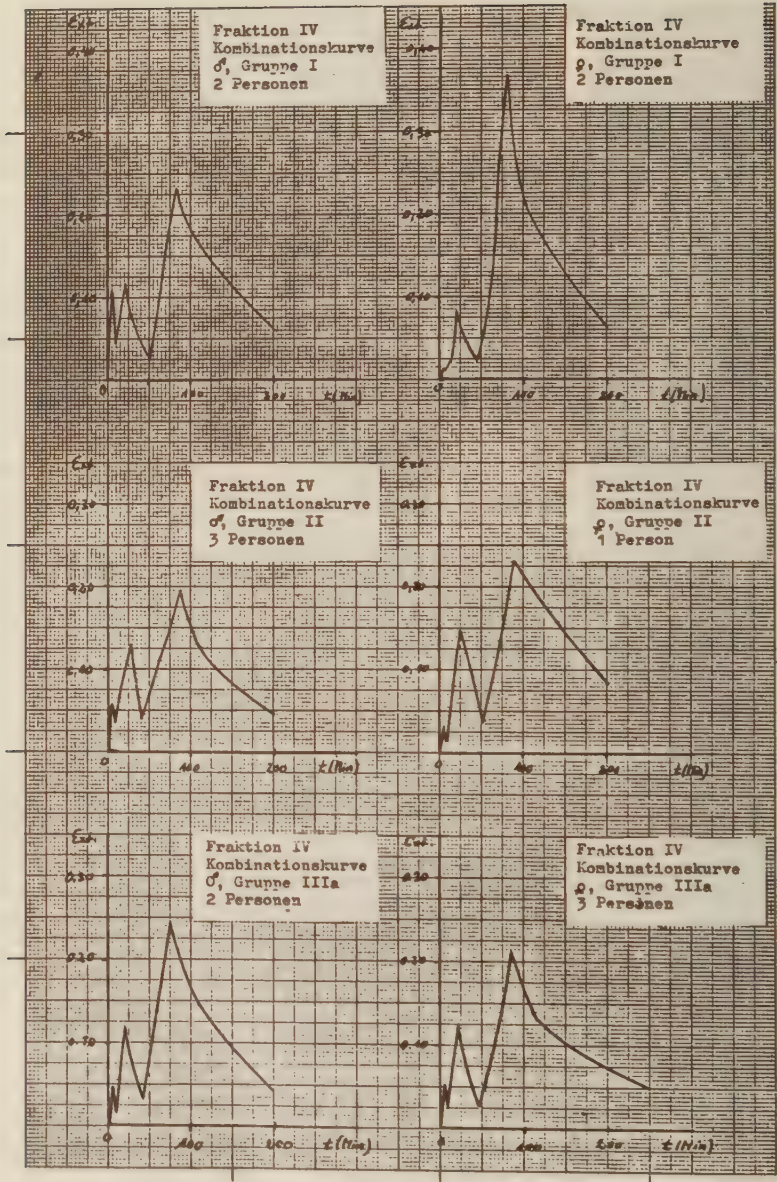
Bei Fraktion IV trat nach 4 Min. ein kleiner spitzer Peak auf, der sofort wieder steil abfiel und bei manchen Kurven nur angedeutet erschien. Nach 20 Min. zeigte sich ein 2. höherer, steil an- und absteigender Peak, dem nach 80 Min. ein ebenfalls steil ansteigender Peak unterschiedlicher Höhe folgte.

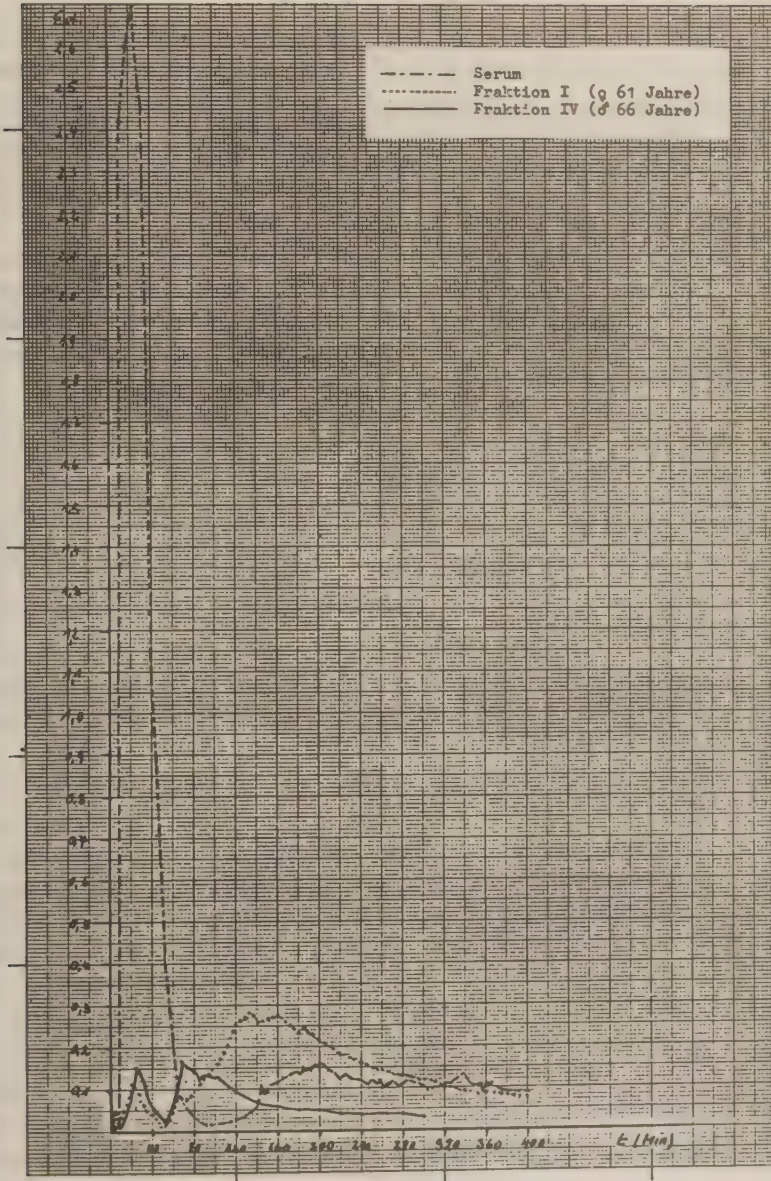
Bei Betrachtung der Kurven der Gesamtfraktion fielen 4 Grundtypen auf, die in allen Gruppen vertreten waren, sich jedoch in Gruppe III besonders deutlich voneinander abhoben. Die Abbildungen auf Seite 25 veranschaulichen dies. Von 28 Kurven ließen sich hier 12 dem Typ I, 6 dem Typ II, 5 dem Typ III und 5 dem Typ IV zuordnen. Als Ursache für dieses Phänomen ließen sich sowohl Änderungen in den Versuchsbedingungen (Konzentration der eingefüllten Eiweißlösungen), als auch Todesursachen und Alters- und Geschlechtsunterschiede ausschließen. Lediglich bei Typ IV fiel ein gehäuftes Auftreten von Carcinomen als Todesursache auf.

Diese auffälligen und unerklärlichen Typenunterschiede mit ihren großen Schwankungen in Zeit und Extinktion auch bei Kurven des gleichen Typs ließen eine Deutung der Ergebnisse in bezug auf die Fragestellung der Arbeit nicht zu.

Ein Vergleich der Kurven der Fraktion I und IV mit Serum (s. S.27) zeigte deutlich, daß beide Fraktionen nicht mit diesem identisch sind, obgleich dieser Gedanke besonders bei Fraktion I, die die leicht zu lösenden Hautbestandteile enthält, nahelag. Selbstverständlich können in Fraktion I Serumbestandteile enthalten sein, doch müßte dies erst durch weitere chemische Eiweißuntersuchungen des Eluates geklärt werden.







III. D I S K U S S I O N

Wie bereits anfangs gesagt, beschäftigte man sich schon lange mit der Beziehung zwischen Morphe und Zeit und versuchte besonders eingehend diesem Problem histologisch und chemisch auf die Spur zu kommen.

Man erkannte, daß mit zunehmendem Alter die Schichten des Epithels schmaler und die Retezapfen flacher werden und die Haarfollikel weiter. Die Haarbälge nehmen an Zahl ab, und die übriggebliebenen Haarpapillen und Schweißdrüsen wandern mehr an die Oberfläche (F. Matzdorff (23); A.T. Salimbeni und Louis Gery (34); G. Manganotti (21)). Wie vor allem P. Lecompte du Nouy (27) beschreibt, werden diese Veränderungen mit durch die verminderte Regenerationsgeschwindigkeit des Epithels veranlaßt, deren Hauptursache nach H.H. Berres (4) in einer Rarefizierung des Gefäßsystems besteht. Ebenso erblickten auch W. Ries (31) und M. Bürger (8) in nachgewiesenen Altersveränderungen der Kapillaren und Involution der kleinsten Gefäße eine Hauptursache des Alters.

Allerdings kann das biologische Alter der Haut beträchtlich vom chronologischen Alter abweichen und wird beeinflußt vom Geschlecht, dem allgemeinen Gesundheitszustand, durch Krankheiten und äußere Bedingungen wie Hautpflege, Wetter und Klima (L.A. Lewis und Ch.R. Rein (16)).

Besonders interessant ist das Verhalten der elastischen Fasern. Die ersten von ihnen treten beim Foeten im Alter von 4,5 Monaten = 20 cm Länge auf und sind einen Monat später in allen Schichten des Coriums zu finden (R. Geiger (12)). Ihre ersten Altersveränderungen treten in der Parotis- und Jochbeingegend bereits in den zwanziger Jahren auf, in anderen Regionen jedoch erst später und sind bei Frauen schwächer als bei Männern ausgeprägt (Ejiri, Isaburo (9, 10, 11)).

Ebenso bemerkenswert verhalten sich auch kollagene Fibrillen, die in der menschlichen Foetalperiode eine deutliche Verbreite-

rung zeigen, die verbunden ist mit einem korrespondierenden Längenwachstum (W.G. Banfield (2)). Erwachsene haben Fasern von 30 - 100 m μ Durchmesser, im Alter besteht dann eine geringe Abnahme auf 20 - 80 m μ und eine Zunahme der Zementsubstanz. Linke (17) ermittelte dies an der menschlichen Bauchhaut. Auch Teller (35) sah, daß sich die Kittsubstanz in der Altershaut vermehrt darstellt, fand aber keinen sicheren Anhaltspunkt für eine echte Zunahme. Nach einer Untersuchung der britischen Forschergruppe um Turnbridge (Leeds) (36) sollen Kollagenfasern bei klinisch normaler Haut unabhängig vom Alter gleiches Aussehen und eine durchschnittliche Faserlänge von 1100 Å haben, was den Befunden von Teller, der einen Faserdurchschnitt von etwa 600 Å fand, widerspricht.

Interessant sind ebenfalls die Ergebnisse von B. Morsches, H. Holzmann und G.W. Korting (25) über das quantitative Verhalten von Kollagen und nichtkollagenem Eiweißgehalt in der menschlichen Haut in Abhängigkeit von Alter und Lokalisation. Sie fanden, daß Kollagen und nichtkollagener Eiweißgehalt sowie der Quotient von Kollagen : nichtkollagenem Eiweiß in Abhängigkeit von der Lokalisation signifikant unterschiedlich ist und mit dem Logarithmus des Alters signifikant zunimmt, während der nichtkollagene Eiweißgehalt signifikant abnimmt.

W.G. Banfield (3) untersuchte den wechselnden Gehalt von essigsäurelöslichem Kollagen in Hautstücken, die er dem rechten oberen Quadranten des Abdomens entnahm, und fand, daß dieses bei 28 % der untersuchten Personen bereits mit dem 20. Lebensjahr abnimmt. Eine sehr deutliche Verminderung tritt dann zwischen dem 20. und 30. Jahr ein und hält bis zum 40. Jahr an. Zwischen dem 60. und 80. Jahr gibt es einen Anstieg, dem später ein Sinken der Werte folgt.

O. Braun-Falco und K. Salfeld (6) untersuchten hingegen den Gehalt der Haut an Elastin durch Hydrolyse der übrigen Gewebsbestandteile mit 0.1 n NaOH und fanden in der Haut von Rindern und Säuglingen einen hohen Prozentsatz von Elastin, der zwischen dem 20. und 40. Lebensjahr abnimmt. Nach dem 40. Lebensjahr soll

dann ein Material auftreten, das sich strukturmäßig zwar nicht, aber gegenüber der Hydrolyse mit NaOH wie Elastika verhält.

An weiteren Eiweißbestandteilen wurden von J.M. Zimmer, Th. Sutter-Dub und Fr. Woringer (37) mit Hilfe der Immunelektrophorese ähnliche Proteine wie im Blutserum gefunden, und es gelang, eine Antifibrinogen-Immunität nachzuweisen. H.P. Baden und I.M. Freedberg (1) untersuchten Homogenisate der Epidermis von Meerschweinchen, Schweinen, Kaninchen und Menschen und konnten mit der Agargel-Elektrophorese 3 verschiedene lösliche Eiweißkörper feststellen, immunelektrophoretische Methoden führten zum Nachweis von 4 verschiedenen epidermalen Proteinen.

Während die meisten Autoren sich als Forschungsobjekt die Gesichtshaut wählten, z.B. Orlovskaja (29), untersuchten Ma, Cowdry (20) den Vorderarm nahe der Ellenbeuge, weil dort die Haut relativ geschützt und weniger modifizierenden Einflüssen ausgesetzt ist. Im Gegensatz zu den Befunden im Gesicht oder der Haut über dem Manubrium sterni oder Oberschenkelinnenseite (B. Morsches, H. Holzmann und G.W. Korting (25)) waren hier die Unterschiede zwischen junger und alter Haut nicht beträchtlich und bestanden hauptsächlich in einer Verminderung und Verdünnung, einmal einem Aufsplintern der Fasern, die auch in der alten Haut mehr gewellt verliefen.

Speziell mit den physiologischen Altersveränderungen der Bauchhaut befaßten sich H.H. Berres und A. Nelke (5). H.H. Berres fand an dieser Stelle der Haut kein stratum lucidum (4).

Matolski und Herbst (22) konnten bei sukzessiven Extraktionsversuchen mit 6 M Harnstoff und den üblichen Eiweißlösungsmitteln in der menschlichen Bauchhaut eine Harnstoff-extrahierbare Substanz nicht identifizieren.

An der Bauchhaut wurden neben der Histologie und Chemie noch die elastischen Eigenschaften in bezug auf das Alter untersucht. Jansen und Rottier (13) stellten fest, daß die Hautelastizität unabhängig von Alter und Geschlecht ist, sofern die Gewichtsbelastung das bei normaler klinischer Untersuchung verwendbare Maß

nicht überschreitet. Beim Vergleich der Mittelwerte mehrerer mechanischer Eigenschaften von Hautstreifen ober- und unterhalb der Nabelhöhe ergaben sich nur geringe Differenzen (14). R. Odewald (28) gibt an, daß nach Schmidt La-Baume, Frankfurt, die Hautelastizität allgemein abhängig ist von Kapillardruck, Venendruck, Gewebsflüssigkeitsspiegel, Dicke der Haut, Unterhautzellgewebe, Füllungszustand sezernierender Drüsen, Sympathikotonus, Alter und Allgemeinzustand des Individuums.

A. Nelke (26) beschäftigte sich in seiner Dissertation speziell mit der Bauchhaut und sieht die ersten histologischen Veränderungen jenseits des 30. Lebensjahres. Sie sind fleckförmig und verteilen sich auf die Jahre zwischen 30 - 50 und nehmen kontinuierlich zu. Messungen der Epidermis- und Cutisbreite ergaben starke Schwankungen der Einzelwerte, die keine sichere Alters- und Geschlechtszuordnung zuließen. Luger und Schulhof (19) konnten dagegen in 70 % der Fälle eine korrekte Geschlechtsdiagnose an von Leichen entnommenen Hautstücken stellen, da in der männlichen Haut breite kurze, in der weiblichen Haut lange und schmale Papillen vorherrschen.

Speziell säulenchromatographische Untersuchungen wurden unter anderem bisher an Rattenhaut durchgeführt. Rodermund, Fasold, Turba und Leinbrock (32) gelang es dabei erstmals, systematisch und schrittweise an ein und derselben Haut die Proteine in Gruppen bis zur vollständigen Lösung des Rückstandes zu fraktionieren und dann neben anderen Versuchsmethoden auch säulenchromatographisch zu untersuchen. Säuleinchromatographische Collagenuntersuchungen von in Essigsäure gelösten Rattenschwanzsehnenkollagenen führten A. Kessler, H. Rosen und S.M. Levenson (15) durch, jedoch mit anderen Versuchsanordnungen als erstgenannte Autoren.

Zusammenfassung

Aus den angeführten Arbeiten und ihren Ergebnissen geht klar hervor, daß die menschliche Haut in unterschiedlichem Maße Altersveränderungen unterworfen ist, die Bauchhaut jedoch sicherlich nicht in dem Grade wie Regionen, die dem Licht, der Witterung und mechanischen Einflüssen ausgesetzt sind. Vielmehr werden hier chromosomale Eigentümlichkeiten, Allgemeinzustand und Hautpflege, also individuelle Faktoren im Vordergrund stehen.

Diese Tatsachen würden erklären, wieso makroskopisch mit Ausnahme der Neugeborenenhaut keine Alters- und Geschlechtszuordnung der aufgearbeiteten Hautstücke möglich war.

Die als Nebenfund ermittelten Angaben über Dicke und Gewicht ließen ebenfalls keine Zuordnung zu Alter und Geschlecht erkennen und decken sich in etwa mit den Angaben von A. Nelke.

Die säulenchromatographisch ermittelten Kurven der I. und IV. Fraktion lassen keine deutlichen Unterschiede zwischen den Geschlechtern und in bezug auf das Alter erkennen.

Herrn Prof. Dr.med., Dipl.Ing. A. Leinbrock, Direktor der Universitätshautklinik in Bonn, möchte ich für die freundliche Überlassung des Themas danken. Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Dr.med. C.-E. Rodermund, Miss. Assistent dieser Klinik, und Frä. König d'Orville, medizinisch-technische Assistentin der Biweißlabore, für ihre freundliche Unterstützung.

IV. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. B a d e n , H.P. und I.M. F r e e d b e r g ; Untersuchungen zum epidermalen Eiweißstoffwechsel. 2. Lösliche epidermale Proteine.
The J. of Investigative Dermatology 39:401-408 (1962)
2. B a n f i e l d , W.G.; Breite und Länge der Kollagenen Fasern während der Entwicklung der menschlichen Haut, im Granulationsgewebe und in der Haut von erwachsenen Tieren.
J. Gerontology, 10,13 (1955)
(Zit. nach: Z.f.Altersforschung, 10:368 (1957))
3. B a n f i e l d , W.G.; Age changes in the acid-soluble collagen in human skin.
A.M.A. Arch.Path. 68:680-684 (1959)
(Zit. nach: Zenträlbl.f.Haut- und Geschlechtskrankh., 108:185 (1960/61))
4. B e r r e s , H.H.; Die Histologie der Altersveränderungen der menschlichen Haut.
Dermat.Wochenschr., 134:1311 (1956)
5. B e r r e s , H.H. und A. N e l k e ; Untersuchungen über die Altersveränderungen der menschlichen Haut, durchgeführt an der Bauchhaut.
Archiv f.klin.u.experiment.Dermat. 204:151-158 (1957)
(Zit. nach: Dermat.Wschr., 136: 977 (1957))

6. Braun - Falco , O. und K. S a l f e l d ; Unter-
suchungen zum Wesen der senilen
Elastosis. I.Mitteilung.
Dermat.Wschr. 135:369-373 (1957)
7. B ü r g e r , M.; Altern und Krankheit, Grundlagen
einer biorheutischen Nosologie.
3.Auflage (Leipzig 1957)
(Zit. nach: Leutert: Die Biomor-
phose der Gewebe aus der Sicht
der normalen Anatomie; Z.f.Alters-
forschung; 14:1-17 (1961)
8. B ü r g e r , M.; Die chemische Biomorphose des
menschlichen Herzklappenapparates
unter Berücksichtigung des kalen-
darischen Alters und Geschlechts.
Z.f.Altersforschung, 17:121-143
(1964)
9. E j i r i , I.; Studien über die Histologie der
menschlichen Haut, besonders über
das Wesen der Altersveränderungen
der Haut.
Jap.J.of Dermat. 39:98-99 (1936)
(Zit. nach: Zentralbl.f.Haut-
und Geschlechtskrankh., 55:428
(1937))
10. E j i r i , I.; Studien über die Histologie der
menschlichen Haut. I.Mitteilung:
Über den regionären Unterschied
der elastischen Fasern der Haut.
Jap.J.of Dermat. 40:173-174 (1936)
(Zit. nach: Zentralbl.f.Haut- und
Geschlechtskrankh., 56:236 (1937))

11. E j i r i , I.;
Studien über die Histologie der menschlichen Haut. II.Mitteilung. Über Alters- und Geschlechtsverschiedenheiten der elastischen Fasern der Haut.
Jap.J.of Dermat. 40, Nr.6, dtsh. Zusammenfassung: 216-217 (1936)
(Zit. nach: Zentralbl.f.Haut- und Geschlechtskrankh., 56:362 (1937))
12. G e i g e r , R.;
Zur Frage der Entwicklung der elastischen Fasern in der Haut.
Wien.med.Wochenschr., Jg.76, Nr.28, 856-860 (1926)
(Zit. nach: Zentralbl.f.Haut- und Geschlechtskrankh., 21:563 (1927))
13. J a n s e n ; R o t t i e r ; Elasticity of Human Skin Related to Age.
Dermatologica 115:106-111 (1957)
14. J a n s e n ; R o t t i e r ; Comparison of the Mechanical Properties of Strips of Human Abdominal Skin Excised from Above and from Below the Umbilic.
Dermatologica 117:252-258 (1958)
15. K e s s l e r , A.; H. R o s e n and S.M. L e v e r s o n ;
J.Biol.Chem., 235, No 4, 989-994 (1960)
Chromatographic Fraktionation of Acetic Acid-solubilized Rat Tail Tendon Collagen
16. L e w i s , L.A. und Ch.R. R e i n ; Hauterkrankungen im Alter.
J.Am.Geriater.Soc. 4:920 (1956)
(Zit. nach: Z.f.Altersforschung 13:88 (1960))

17. Linke ; Z. Zellforschung, 42:331 (1955)
(Zit. nach: Dermatologica, 114:63 (1957))
18. Lowry , O.H.; N.J. Rosebrough ; A.L. Farr
and R.J. Randall ;
J.Biol.Chem., 193, 265 (1951)
(Zit. nach: Kessler,A., H.Rosen
and S.M.Leverson; J.Biol.Chem.
235, No 4, 989-994 (1960))
19. Luger ; Schulhof ; Klin.Med.4:222-225 (1949)
(Zit. nach: Sammelreferat über:
Anatomie der Haut, Dermatologica,
104:43-55 (1952))
20. Ma ; Cowdry ; J.Gerontology 5:203-210 (1950)
(Zit. nach: Sammelreferat über:
Anatomie der Haut. Dermatologica,
104:43-55 (1952))
21. Manganotti , G. und Collab. Suppl. V.
Giorn.Gerontol. 1956.
(Zit. nach: Z.f.Altersforschung
11:253-254 (1958))
22. Matolski und Herbst ; J.invest.Derm. 26:339
(1956), 27:263 (1956)
(Zit. nach: Dermatologica, 116:
118 (1958))
23. Matzdorff , P.; Grundlagen zur Erforschung des
Alterns. Frankfurt/Main 1948
24. McIntire , F.C. and J.R. Schenk ; J.Am.Chem.
Soc., 70 (1948) 1193
(Zit. nach: Papier-, Säulen-,
Dünnschicht-Chromatographie, Heft
der Firma: Macherey-Nagel & Co,
Düren)

25. M o r s c h e s , B.; H. H o l z m a n n u n d G. W. K o r -
t i n g ; Untersuchungen zum quan-
titativen Verhalten von Kollagen
und nichtkollagenem Eiweiß in der
menschlichen Haut in Abhängigkeit
von Alter und Lokalisation.
Archiv f.klin.u.experiment.Dermat.,
224:117-127 (1966)
26. N e l k e , A.; Die Altersveränderungen der
menschlichen Bauchhaut.
Inaug.Diss. 1959, Köln
27. N o u y , P. L e c o m p t e d u ; Z.f.Altersforschung
1:301 (1939)
(Zit. nach: Matzdorff, P.; Grund-
lagen zur Erforschung des Alterns,
Frankfurt/Main 1948)
28. O d e n w a l d , R.; Elastizitätsmessungen mit dem
Schade'schen Taschenelastometer
an krankhaft veränderter und ge-
sunder Haut. Inaug.Diss. 1929,
Göttingen
29. C r l o v s k a j a ; Arch.Pathologiyi 11:51-58 (1949),
Ref. Excerpta Medica XIII 4:1569
(1950)
(Zit. nach: Sammelreferat über:
Anatomie der Haut. Dermatologica,
104:43-55 (1952))
30. F e t e r s o n , E. A. and H. A. S o b e r ; J. Am. Chem. Soc.,
78 (1956) 751
(Zit. nach: Papier-, Säulen-,
Dünnschicht-Chromatographie, Heft
der Firma: Macherey-Nagel & Co,
Düren)

31. R i e s , W.; Das Altern des Kapillarsystems,
Dtsch.Gesd.wes. 16:580 (1961)
(Zit. nach: Z.f.Altersforschung,
15:352 (1962))

32. R o d e r m u n d , O.-E.; H. F a s o l d ; F. T u r b a
und A. L e i n b r o c k ;
Fraktionierung der gesamten Pro-
teine aus Rattenhaut und Charak-
terisierung der einzelnen Anteile;
Archiv f.klin.u.experiment.Dermat.
226:300-307 (1966)

33. R ö s s e l e , R.; Wachstum und Altern (Erster phys.
Teil) Erg.all.Path. 18, II.Abt.,
677 (1917)
(Zit. nach: Leutert; Die Biomor-
phose der Gewebe aus der Sicht der
normalen Anatomie; Z.f.Altersfor-
schung; 14:1-17, (1961))

34. S a l i m b e n i , A.T. und L. G e r y ; Beitrag zum Stu-
dium der pathologischen Anatomie
des Alters, Annal.de l'inst.Pasteur,
1912, Nr.12
(Zit. nach: Dermat.Wochenzeitschr.,
55:1608 (1922))

35. T e l l e r ; Elektronenmikroskopische Untersu-
chungen an der Interzellulärsub-
stanz des Korioms bei Altersatro-
phie.
Dermat.Wochenzeitschr., 135:467-
468 (1957))

36. T u r n b r i d g e ; Elektronenmikroskopische Untersuchungen an der Interzellulärsubstanz des Coriums bei Altersatrophie.
Dermat.Wochenzeitschr., 135:467-468 (1957)
37. Z i m m e r , J.; M.-Th. S u t t e r - D u b und Fr. W o -
r i n g e r ; Nachweis von Fibrinogen bei der Immunelektrophorese des Derma. Vorläufige Mitteilungen.
Dermat.Wochenzeitschr., 150:513 (1964)

Lebenslauf

Am 30. September 1942 wurde ich in Kiel geboren als Tochter des Fachdrogisten Heinz Warnke und seiner Ehefrau Luise Warnke, geb. Schmidt.

Ich wuchs in Bremen auf und besuchte hier von 1949-1955 die Volksschule, von 1955-1959 die Mittelschule und anschließend bis 1963 das Gymnasium. Hier legte ich 1963 auf dem mathematisch-naturwissenschaftlichen Zweig das Abitur ab und begann anschließend mit dem Medizinstudium an der Universität Erlangen-Nürnberg, wo ich 1964 das Vorphysikum und 1965 das Physikum bestand. Nach dem 6. Semester wechselte ich zur Universität in Bonn über und meldete mich hier nach dem 11. Semester zum Staatsexamen, das ich am 11.2.1969 abschloß.

Seit dem 14.2.1969 bin ich verheiratet und lebe in Aachen.

1